

6. 寄生動物部

部長 野崎 智 義

概 要

当部は、原虫及び蠕虫による感染症全般に係る基礎ならびに応用研究を行っている。疾患対象としては、赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、ミクロスポリジアなどの腸管寄生性の原虫、アカントアメーバ等自由生活性アメーバ、トキソプラズマ・マラリア原虫などの単細胞真核生物である原生生物（原虫）による感染症と、条虫・回虫・肺吸虫・アニサキス・エキノコックス症など、多細胞真核生物である蠕虫による感染症が挙げられる。これら寄生虫感染症の国内外の現況把握のために、疫学・分子疫学調査を継続的に行った。また、寄生虫感染症に対する検査・診断法の開発・評価、治療法の創成に繋がる基盤的な研究を行った。同時に、寄生虫感染症の病理と寄生・病原機構の分子レベルでの理解を目指した基礎研究を行った。また、各寄生虫に関する依頼検査、レファレンス業務、研修、国際協力活動を行った。

第一室では、腸管原虫症、特に赤痢アメーバ症・ジアルジア症・クリプトスポリジウム症・ミクロスポリジア症の診断法開発や疫学・分子疫学研究を行った。また赤痢アメーバの病原・代謝機構の統合的解明を目指す研究を展開した。同時に、原虫特異的代謝経路を標的とした創薬研究を行った。また、自由生活性アメーバの起こす角膜炎ならびにこれに媒介される細菌感染症に関する疫学・分子疫学・病因学的な研究を行った。

第二室においては、食品由来寄生蠕虫症（アニサキス症、肺吸虫症、横川吸虫症・異形吸虫症、裂頭条虫症、テニア症、有鉤囊虫症など）、ならびに動物由来寄生蠕虫症（エキノコックス症、アライグマ回虫症、トキソカラ症など）を対象とし、遺伝子診断法や血清診断法開発のための基礎的研究や疫学的研究を行った。また、テニア症（有鉤囊虫を含む）、裂頭条虫症や肺吸虫症に関しては、その検査診断法開発に不可欠な寄生虫材料の採取や疫学的情報収集を海外の流行地において行った。エキノコックス症については汚染地域拡大防止と食肉衛生検査所を対象に分子病理診断に関する研修事業を行った。アライグマ回虫による幼虫移行症については発生予防と監視を目的にした調査研究を行った。国内外の医療研究機関から送付された臨床検体（病理組織標本を含む）については、血清検査や遺伝子検査により診断のサポートを行った。

第三室では、マラリア、住血吸虫、トキソプラズマ、赤痢アメーバなどを主な研究対象とした。マラリアや住血吸虫は、現在日本ではもっぱら輸入感染症として問題になっているが、いまだ国内にベクターとなる蚊や陸生貝が生息しており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、これらの感染症の浸淫地との国際交流や気候・環境変化に伴う、日本での感染拡大の可能性を検討し、効果的防御法に関する研究を行った。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、

研究成果の一部は、実際に途上国での寄生虫症対策にも応用された。さらに、トキソプラズマにおける植物様細胞内器官、植物様ホルモンに関する研究を行った。また、赤痢アメーバ原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する研究を行った。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（新興・再興研究事業費、顧みられない病気に関する研究等）、文部省科学研究費補助金、ヒューマンサイエンス財団政策創薬総合研究事業費等を取得した。人事面では4月1日付けで永宗喜三郎が第三室主任研究官として採用された。再任用職員として、川中正憲、古屋宏二、客員研究員として影井昇、松田肇、千種雄一、亀井喜世子、協力研究員として佐藤暖、渡辺恒二、高岡紀子、岡田麻美、川原史也、下河原理江子、黒木俊郎、荒川京子、小村麻子、梅原梓里、Jeelani Ghulam, Ahmad Bilal Andrabi Syed, Claudia Leticia Mendoza Macias, Bethel Kwansa-Bentum, Mohammed Essa Marghany Tolba, 流動研究員として三田村文香、牧内貴志、青沼宏佳、坪井久美子、研究生として Mohammad Abu Yousuf, Afzal Husain, Aleyla Escueta-de Cadiz, Gil Mallari Penuliar, 非常勤職員として、樹田京子、森有加、村上裕子、臨時研究補助員として中曾根英子、田原美智留、賀川千里、古川敦、福士路花が、実習生として間瀬望、花館有希が在籍し、研究等に従事した。

業 績

調査・研究

I. 検査法・診断法・不活化法の開発

1. 原虫症診断法・検出法・不活化法の開発

(1) ジアルジア迅速診断検査法の開発

国内外で重要な消化管寄生性原虫であるジアルジア症に関して、国内での抗原検査用抗体生産を目的に、ジアルジアのシスト壁由来成分を抗原としてモノクロナル抗体の開発を行った。その結果、複数の有用な抗体作成に成功した。クリプトスポリジウムや赤痢アメーバ等ジアルジア以外の消化管寄生性原虫に対する交叉反応性、また検査目的とする糞便内の65kDaタンパク質との反応性試験の結果から、特異性、感度に関して作成された抗体の有用性が高いことが確認された。現在、ELISA等実用的な免疫抗原検査キット開発への準備を進めている。[八木田健司、宮崎誠生（株アーク・リソース）]

(2) クリプトスポリジウムの生残性に関する研究

生きたクリプトスポリジウムの示す生物活性の指標となる脱オーシスト能とクリプトスポリジウムの18SrRNAのRT定量PCRとの関係を調べた。マウス糞便中に排出された*C. parvum*のオーシストを実験的に失活させるため、温度40℃、10日間保管した。排出直後と比較して脱オーシスト能は約25%に低下、また18SrRNA量は約10%に低下し、18SrRNAのRT定量PCRは脱オーシスト能と同様な

挙動を示した。さらに様々な条件下での試験を行い、18S rRNA の RT 定量 PCR のクリプトスポリジウムの生残性を評価する指標として有用性を明らかにする。[八木田健司、泉山信司、村上裕子]

(3) LAMP 法によるクリプトスポリジウム等の検出感度

RT-LAMP 法によるクリプトスポリジウムならびに LAMP 法によるジアルジアの検出感度を検討した。同じ鋳型量の反応を 8 回行い、rRNA を標的としたクリプトスポリジウムの RT-LAMP による検出は限界希釈法によってオーシスト 0.006 個相当から安定して陽性反応が得られることを確認した。一方、ジアルジアは rDNA のコピー数が多いことから逆転写反応を行うことなく、シスト 0.006 個相当の抽出液から安定して陽性反応が得られた。検出系が高感度化されたことで、核酸の最終抽出液を増量 (50 ないし 100 μ L) させることが可能となり、その結果、繰り返し反応が保証され、さらに同一の核酸抽出液を用いてクリプトスポリジウムとジアルジアの検出試験が可能となった。[泉山信司、遠藤卓郎、百田 隆祥 (栄研化学 (株))]

(4) Cycleave プローブを用いた RT-PCR 法によるクリプトスポリジウム等検査法の開発

Cycleave プローブを用いた RT-PCR によるクリプトスポリジウムならびにジアルジアの検出系を開発した。rDNA を標的とした qPCR の検出は、限界希釈法によってオーシスト 0.24 個相当、rRNA を標的とした qRT-PCR では最終の反応チューブあたりでオーシスト 0.0048 個相当から安定して増幅産物が得られると計算された。同様に、ジアルジアの rDNA を標的とした qPCR の検出はシスト 0.01 個相当、rRNA を標的とした qRT-PCR ではシスト 0.002 個相当から安定して増幅産物が得られた。実際の河川水試料を用いた検出実験では顕微鏡、RT-LAMP 法のいずれの方法においてもおおむね同様の陽性結果が得られた。増幅産物の直接塩基配列決定を行った結果、目的とするクリプトスポリジウムならびにジアルジアの塩基配列であり、特異的な増幅と検出であったことを確認した。[泉山信司、遠藤卓郎、猪又明子 (東京都健康安全研究センター)、碓井圭名子 (タカラバイオ株式会社)]

(5) Universal QProbe PCR 法を用いたクリプトスポリジウム検出法の開発

耐塩素性病原性原虫による水道水由来の健康影響リスクを定量的に推定し、管理するためには、水道原水や浄水中の原虫濃度を正確に測定する方法が必要となる。顕微鏡観察による原虫類の計数は多検体の処理には不向きで、顕微鏡観察に代わる遺伝子検査技術を用いた定量手法に期待が寄せられている。当該研究では、耐塩素性病原性原虫の定量手法として、Universal QProbe PCR 法に着目した。結果として 7.5×10^{-5} oocysts/tube から定量可能な系を構築し、河川試料からの定量値は顕微鏡の推定値にほぼ近似した。今後は適用試料数を増やし、定量系の実用に向けた検討を行う予定である。[岸田直裕、秋葉道宏 (国立保健医療科学院水道工学部)、野田尚宏、関口勇地 (産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門)、泉山信司]

(6) LAMP 法と顕微鏡法によるクリプトスポリジウム等検査法の比較検討

耐塩素性病原微生物のクリプトスポリジウムやジアルジアの試験は顕微鏡観察法 (以下検鏡法) が一般的に利用されているが、検鏡法は形態学的な理解度の差が結果

の違いに現れる懸念があること、量的な処理に不向きなことが問題とされる。このような背景からクリプトスポリジウム遺伝子検査法が期待され、複数の研究報告がこれまでなされている。本研究ではその一つの LAMP 法を用いて、水道原水、河川水、及び畜産排水での原虫試験を行い、検鏡法と結果を比較した。クリプトスポリジウム及びジアルジアともに、概ね検鏡法と LAMP 法の結果は一致した。試料を TE で希釈したり、LAMP 試験サンプル量を減じたりすると LAMP 試験結果が陰性から陽性に転じて阻害物質の存在が強く示唆され、試料前処理が重要と考えられた。[勝山志乃、大谷喜一郎 (神奈川県内広域水道企業団水質管理課)、百田隆祥 (栄研化学)、遠藤卓郎 (細菌第一部)、泉山信司]

(7) 粉体ろ過層形成濃縮方法の検討

水道クリプトスポリジウム対策指針では、食品の検査制度に倣い、浄水を毎日 20 リットル (L) 採水し、ポリタンクに注入した水または採水した水から得られるサンプルを 14 日間保存することが推奨されている。ポリタンクによる保存はスペースや冷暗所環境の確保が課題となることや、濃縮試料からは速やかに検査が可能となることから、濃縮したサンプルの保存が望ましい。当該研究ではヒドロキシアパタイトを用いた粉体ろ過層形成濃縮法の検討を行った。直径 35mm の使い捨て容器を組み合わせ使用した結果、浄水では 40 分で 20L、約 4 時間で 100L のろ過濃縮に達した。連続濃縮では、400L 程度まで初期設定流速でろ過が可能であった。この方法によって得られた濃縮サンプルから、クリプトスポリジウムを磁気ビーズ法で回収できることが確認された。直径 90mm の原水適用装置モデルで、濁度 1.3~2.2 度の原水 10L を約 15 分程度で濃縮できることが確認され、40~50L 程度の濃縮が実用的と判断された。[勝山志乃、大谷喜一郎 (神奈川県内広域水道企業団)、大内一敏 (東洋濾紙)、遠藤卓郎 (細菌第一部)、泉山信司]

(8) モノクロラミンによる入浴施設の消毒

浴槽の維持管理方法の構築を目的として、入浴者にとって安全で許容し得る浴槽水の消毒方法の検討を行っている。レジオネラ属菌汚染防止等の目的で温泉を含む浴用水の施設の塩素消毒は必須となっているが、高 pH やアンモニウムイオン、ある種の金属イオンを多く含む泉質の湯などでは著しく効果を減ずることが指摘されている。当該研究では遊離塩素消毒に代わってモノクロラミン消毒に着目し、モノクロラミンは宿主アメーバの栄養体とレジオネラ属菌を不活化できることをこれまで示してきた。モデル循環式浴槽のモノクロラミン消毒を行い、換水なしで 2 週間の入浴試験中、レジオネラ属菌とアメーバは検出されなかった。同時に測定した従属栄養細菌数も低く、微生物の増殖は抑えられていた。なお、ボランティア入浴者から、いわゆる塩素臭がほとんどなかったとの感想を得ており、モノクロラミンによる消毒では臭気の低減が期待できた。消毒を停止すると宿主アメーバとレジオネラが検出され、浴槽が汚染されやすい状態であったことは確認された。今後、入浴施設での実地試験数を増やすことを課題とし、営業施設への応用が期待された。[杉山寛治 (静岡県環境衛生科学研究所)、小坂浩司 (国立保健医療科学院)、縣邦雄 (アクアス)、遠藤卓郎 (細菌第一部)、泉山信司]

(9) モノクロラミンの測定と管理の方法

浴槽のモノクロラミン消毒には、トリクロラミン臭気の抑制と、適切な濃度の維持管理方法が必要である。当

該研究では 2 週間の入浴試験中の塩素消毒が適切であることをモデル浴槽で確認し、また現場向きの測定方法について検討した。モノクロラミンは、アルカリ性 (pH8.4) 条件下の井水 1L に次亜塩素酸ナトリウム溶液を加え、次いで塩化アンモニウム水溶液を添加・混合することで生成した。生成したモノクロラミンをモデル循環式浴槽に加え、その後は 1 日 1 回の不足分の追加で 3mg/L の濃度を維持した。DPD/FAS 滴定法では、ジクロラミンがわずかに検出された程度にとどまり、塩素臭の主要な原因となるトリクロラミンは検出されなかった。高感度な HS-GC/MS 法による測定においても、トリクロラミンは検出されなかった。インドフェノール法とサリチル酸法による測定結果より、消毒効果の低い有機クロラミンはほとんど検出されないと判断された。簡易の DPD 吸光度法 (全塩素) は他の複数のモノクロラミン測定方法と同等の測定値が得られたことから、DPD 吸光度法による全塩素濃度はモノクロラミン濃度に相当するものと判断され、現場向きの測定法として利用可能であった。[小坂浩司 (国立保健医療科学院)、杉山寛治 (静岡県環境衛生科学研究所)、縣邦雄 (アクアス)、遠藤卓郎 (細菌第一部)、泉山信司]

(10) 微胞子虫 *Encephalitozoon cuniculi* 感染における尿中孢子および抗体排泄 (1) 血清学的高度流行コロニーのウサギにおける尿抗体の検出

ある種のウイルスや細菌感染では抗体がヒトや動物の尿から検出され臨床診断に応用されている。寄生虫感染でも、*Leishmania*、*Schistosoma* などに対する尿抗体の診断的研究が行われている。我々はペットウサギにおける *Encephalitozoon* 感染の血清学的研究過程で尿抗体が排泄されていることを発見し、微胞子虫播種性感染における尿抗体排泄の機序、診断的意義等を明らかにする目的で研究をスタートさせた。今回は 2 つの集団飼育コロニーウサギ (N 群、H 群) における尿抗体の排泄について調べた結果、N 群に spore-ELISA 法 (CVI, 14, 168, 2007) による陽性例を認めた。N 群 15 頭のうち 6 頭から抗 SW 抗体が、7 頭から抗 PT 抗体が検出された。H 群 16 頭からは尿抗体は検出されなかった。sAg-ELISA 法 (J. Vet. Med. Sci., 70, 1301, 2008) による N 群 31 頭の血清抗体測定結果は、すべて OD 0.5 以上の陽性値を示し、16 頭が >3 であったが、H 群 27 頭のうち 18 頭は OD 0.5 以下の陰性値を示した。ヒトおよび動物の微胞子虫感染における尿抗体についての研究はこれまでほとんど行われていない。コロニー内流行ウサギからの尿抗体陽性結果を踏まえ、今後、感染実験を含めた更なる研究を行うことを予定している。[古屋宏二、朝倉登喜子、五十嵐慎 (帯広畜大)、森田達志 (日獣大)]

(11) 微胞子虫 *Encephalitozoon cuniculi* 孢子の免疫組織化学的検出のための染色法の改良

前回、affinity 精製した biotin 標識抗 *Encephalitozoon cuniculi* 抗体 (b- α -Ec) が自然感染ウサギからの臓器抽出液内孢子の検出に有用な免疫試薬であることを報告した。今回、細胞培養由来の孢子に対するホルマリン (For) あるいはメタノール (Me) 固定後の b- α -Ec による免疫染色の最適条件を探るため、先ず、b- α -Ec 結合孢子に対する peroxidase streptavidin (PO)/aminoethyl carbazol (AEC) 基質と PO/HistMark Blue (HMB) 基質の染色性を比較検討したところ、何れの固定でも PO/HMB が約 10 倍高い染色感度を示すことが分かった。次に、b- α -Ec 結合孢子に更に biotin 標識抗ウサギ IgG 抗体 (b- α -Ra) を反応させ、PO/HMB で染色し

たところ、b- α -Ra を反応させなかったものより、4~8 倍染色感度を高めた。しかしながら、Me 固定孢子に比べ、鏡検による免疫染色後の For 固定孢子の検出は容易ではなかったため、免疫染色の手順に入る前に抗原賦活剤 (LAB、TUF、Trypsin) による前処理を行ったところ、著しい改善が認められた。特に LAB 処理では一次抗体の希釈が 8,000 倍でも孢子を容易に検出できることが分かった。今回の染色条件を参考に、今後、各種の For 固定・パラフィン包埋組織切片材料への応用を進めたい。[朝倉登喜子、古屋宏二、杉山広、宇根有美 (麻布大)]

(12) 尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

最近のマラリア感染率の推移がわかっているソロモン諸島で、熱帯熱マラリア原虫に対する尿中抗体価の測定が、マラリア低浸淫地での疫学的指標や Rapid assessment 手法として利用できるか検討した。1990 年代初めにはマラリア感染率が人口の 30~40% だった 2 地域の住民から、2009 年 9 月採取された尿を用い、尿中熱帯熱マラリア原虫抗体価を、熱帯熱マラリア原虫 (PfNF54 株) 感染ヒト赤血球を Tetanolysin 処理して破碎、遠心した上清を抗原とし測定した。1990 年代にマラリア対策が進んだ地域 A (ホニアラ市) では、B (ガダルカナル島北東岸、タシンボコ地域村落群) に比して、特に 20 歳以下の若年者で陽性率が低く抗体価も低い例が多くなった。また、若年者で尿中抗体価が陽性となった例の 90% では、最近 3 年間のマラリア罹患が、顕微鏡による観察で確認されていた。尿中の熱帯熱マラリア原虫抗体価の陽性率は、年齢層毎に比較することにより、マラリア低浸淫地における Rapid assessment やマラリア対策の成果をモニタリングする指標として利用できることが示唆された。[大前比呂思、伊藤誠 (愛知医科大学)、亀井喜世子 (平成帝京大学)]

2. 蠕虫症診断法・検出法の開発

(1) イムノクロマト法による血清診断キットの開発

ア. ES 抗原を用いた肺吸虫症血清診断キットの開発

ウェステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫から調製した ES 抗原を用いて、免疫クロマトグラフィー法に基づく血清診断キットを新たに作製した。原因種が明らかな患者の血清パネルを用いて、本キットの性能を評価した。その結果、患者の原因種と診断キットの由来種が同一の場合に強い反応を認め、確実に診断される事が分かった。異なる場合には、反応強度が弱まる例もあったが、陰性となる事はなかった。本キットのこの特徴を活かせば、原因種の子種が困難な症例の診断にも、本キットが活用できると考えられた。[杉山広、森嶋康之、山崎浩、小林行治・小林薫 (アドテック株式会社)]

イ. レコンビナント抗原を用いたトキソカラ症 (イヌ・ネコ回虫症) の迅速血清診断キットの開発

イヌ・ネコなどのペットから、あるいは牛レバーの生食によって感染するイヌ・ネコ回虫症 (トキソカラ症) の血清検査キット開発をイヌ回虫幼虫のレコンビナント抗原を用いてイムノクロマトキットを試作し、健康人血清、ならびにトキソカラ症患者血清を用いてキットの感度を評価するとともに、改良を重ね、概ね良好な結果が得られるキットを作成することが出来た。[山崎 浩、森 有加、小林行治・小林 薫・福田健太 (アドテック株式会社)]

(2) 宿主サワガニの加熱による肺吸虫感染リスクの除去

市販の食用サワガニを原因に、肺吸虫に感染する事例の報告が続いている。このような感染の予防を視野に、

サワガニの加熱条件を検討した。加熱効果の判定に当たっては、加熱サワガニから分離したメタセルカリアの形態を精査すると共に、マウスへの感染試験も実施した。その結果、サワガニを55℃で5分間加熱すれば、その体内のメタセルカリアは感染能力を消失することが明らかとなった。より短い2分間処理では感染するマウスも認め、予防効果は不十分であった。より高い温度での加熱や冷凍なども、サワガニの処理として肺吸虫の感染予防に有用と考えられたので、検討を進める予定にしている。[杉山広、森嶋康之、山崎浩、柴田勝優・川上 泰（麻布大）]

(3) 病理組織標本を用いた寄生虫の分子同定

国内外の医療機関から寄生虫の依頼検査の中には、ホルマリン固定標本やパラフィン包埋標本が含まれているが、ホルマリン固定はDNAを分解するために、一般にDNAの増幅は困難である。しかし、DNAの抽出条件やPCR条件を検討することによって、その寄生虫の種の鑑別が可能になってきた。平成21年度には、チリ大学医学部寄生虫学教室から、チリ人で発生した裂頭条虫症5例について、原因となった条虫成虫(3検体)と虫卵(2検体)が送られてきた。ミトコンドリアDNA解析の結果、原因となった裂頭条虫は広節裂頭条虫 *Diphyllobothrium latum* (成虫2、虫卵1)と太平洋裂頭条虫 *Diphyllobothrium pacificum* (成虫、虫卵各1例)であった。[山崎浩、森有加、川中正憲、杉山広、森嶋康之]

(4) *Metagonimus* 属吸虫による腸吸虫症検査法の改良

腸吸虫症は日本国内において依然発生の多い寄生蠕虫症であるが、従来の顕微鏡検査では原因種を正確に同定することはできない。そこで我々は、本症の原因種を正確に鑑別することを目的とし、*cox1* 領域を標的部位としたマルチプレックスPCR法を開発・使用してきた。ところが、実際の臨床検体に対しては感度が不十分な例が認められることがあったため、実験感染材料を用いて検査法としての信頼性の評価を行うとともに、感度を向上させるための臨床検体からのDNA抽出法の最適化を図った。[森嶋康之、杉山広、川中正憲、山崎 浩、加島準子（日本寄生虫予防会）]

(5) 日本住血吸虫症の免疫診断法の開発

尿を用いた簡便、迅速かつ非侵襲的な診断法の開発を目して、日本住血吸虫(SJ)感染者の尿中に検出される特異抗体の特徴を明らかにし、SJ成虫体の tegument に局在し、22.6kDaの分子量をもつ成分のレコンビナント蛋白(rSJA226)をSJ症の免疫診断に導入してきた。rSJA226は、尿中の抗体検出に優れ、治療後、従来の成虫・虫卵抗原を用いた免疫血清検査の抗体価よりも速やかに陰転化する特徴を有している。2009年度はレコンビナント蛋白のアミノ酸配列に基づいてペプチドライブラリーを作製し、特異的モノクローナル抗体(SJA111 mAb)のB細胞エピトープを決定した。また、SJA111 mAbを用いて、SJ226循環抗原を検出したところ、循環抗原として高率に存在するが、治療後速やかに消失することが確認された。[朝日博子、大前比呂思、田邊将信（慶応大）、山下隆夫（山形県立保健医療大）、太田伸生（東京医歯大学大学院）]

II. 疫学・型別・分子疫学的研究

1. 原虫症の分子疫学的研究・調査

(1) 消化管寄生性原虫類の国内感染実態調査

現在、国内における消化管寄生性原虫類感染に関する

実態については不明な点が多い。本年度、国立国際医療センターと共同で、同センターにおいて診断されたAIDS関連下痢症および渡航者下痢症における消化管寄生性原虫類の感染調査を行った。原虫全般でみると、AIDS下痢症では約46%、渡航者では約41%の検出率であり、AIDSでは赤痢アメーバ、ジアルジア感染が、また渡航者下痢ではクリプトスポリジウム、ジアルジア、サイクロスポラの感染がみられた。医療機関全般における寄生虫・原虫検査の必要性が再認識される。[八木田健司、渡辺恒二（国立国際医療センター）、泉山信司、津久井久美子、永宗喜三郎]

(2) アカントアメーバ性角膜炎全国サーベイランスと分子疫学的研究

前年度より、コンタクトレンズ関連の重症角膜炎であるアカントアメーバ性角膜炎の全国サーベイランスに関連して分子疫学的な研究を開始した。本年度その継続調査を行ったが、分離株のほとんどすべてが18SrRNAタイピングにおけるT4タイプの中で、T11タイプが1例検出されたこと、また近年のアメーバ性角膜炎患者増加の一因とされるMPS(Multi Purpose Solution、いわゆるレンズ保存・洗浄液)が患者の角膜分離株と同じ株で汚染されていたこと等、感染実態の証左となるような疫学的データも得られた。[八木田健司、村上裕子、井上幸次（鳥取大）]

(3) アメーバ内共生(寄生)微生物に関する研究

今後の新興感染症への備えとして、自由生活性アメーバに共生する微生物のヒトへの健康影響に関する研究を進めている。国内の調査では、これまでに *Parachlamydia* と同定されたクラミジアが共生する *Acanthamoeba* を分離した。当該の共生アメーバは、あるレジオネラ集団感染事例の浴槽水から分離され、同事例ではレジオネラ以外の原因と想定される呼吸器疾患がみられたこと、また *Parachlamydia* が呼吸器感染の原因微生物とされることが近年国外調査で明らかになっている。今回分離された *Parachlamydia* の呼吸器疾患との関連性が注目される。[八木田健司、村上裕子]

(4) 飲料水の水质リスク管理に関する統合的研究(微生物分科会)

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、塩素消毒に依存した微生物対策の見直しが求められている。当該分科会では研究分担者、協力者との研究協力により、耐塩素性病原微生物に関する研究と併せて、水道に関連する細菌・ウイルスの研究についての取りまとめを行っている。一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌測定が開始され、不検出ではない、有意な測定値が得られることが全国的に明らかになった。ウイルスでは浄水処理によるインフルエンザウイルスの処理性が検証された。耐塩素性病原微生物対策として、試料水の濃縮方法、迅速遺伝子検査法を開発された。rRNAの逆転写によるクリプトスポリジウム等高感度検出によって実用化に向けての道が開けてきており、qRT-PCRによる定量、並びに直接塩基配列決定による種や型の情報が得られた。一方、顕微鏡検査によりクリプトスポリジウム等検査が定期的に行われているが、209水道事業体中22事業体(11%)において原水からの検出を確認した。畜産排水処理施設における病原性原虫を調査したところ、処理施設への流入水中の濃度は高く、排水処理による原虫除去は2~3 log程度であったが、処理に不良が生じると性能が著しく低

下した。[泉山信司、秋葉道宏（国立保健医療科学院水道工学部）、松下拓、松井佳彦（北海道大学大学院工学研究科）]

(5) 河川水からのクリプトスポリジウム等検出状況

全国的なクリプトスポリジウム等検出状況を調べるため、ホームページ上でクリプトスポリジウムの検出状況を公表している水道事業者を調査したところ 219 事業者が確認できた（平成 22 年 3 月現在）。原水について試験を行っていたのは 209 事業者で、最大値は 10L 中 26 オーストであった。浄水から検出されている例はなかった。水源の種類は表流水から地下水まで広範囲であり、事業者が実施している試験回数や試験水量も一律ではないが、このうちクリプトスポリジウムの検出を報告している事業者は 22 事業者であり、約 11% に過ぎなかった。地域的には北海道と南関東で検出率が高く、地位的な偏りがあり、想定すべき検出状況に比べて低いことが懸念された。精度管理の必要性が強く感じられた。[泉山信司、浅見吉之（神奈川県内広域水道企業団）]

(6) 養豚施設における *Cryptosporidium*、*Giardia* の分布状況

水源を汚染する *Cryptosporidium* および *Giardia* の汚染源に関する基礎資料として、養豚施設で飼育されているブタの *Cryptosporidium* および *Giardia* の保有状況を調査した。2 ヶ月齢のブタから *Cryptosporidium* が検出され、pig genotype II および *C. suis* と相同性が高い配列が得られた。*Giardia* では 2~6 ヶ月齢の子ブタから検出され、遺伝子型は Assemblage E であった。いずれも稀にヒトからの検出例が報告され、注意を要すると考えられた。[黒木俊郎、稲田貴嗣（神奈川県衛生研究所）、大谷喜一郎（神奈川県広域水道企業団）、泉山信司]

(7) アフリカにおけるマラリア原虫 CQ 耐性遺伝子 *pfert* の遺伝的多型の解析

アフリカで蔓延するクロロキン(CQ)耐性マラリアは、1970 年代から *in vivo* での耐性が報告されている。今世紀に入り、薬剤標的遺伝子の多型解析によって、アフリカの耐性株は主に東南アジアからの移入であることが判明した。しかし、薬剤耐性の存在を耐性遺伝子の遺伝子型で証明することは、CQ 標的遺伝子として *pfert* が同定される 1990 年代以前は極めて困難である。そこで、感染症の 1984 年から 1998 年までのアーカイブ標本から *pfert* の遺伝子型の同定を行った。まず、*pfert* は全期間を通して半数以上のサンプルが CQ 耐性型で、野生型の *pfert* もかなり存在していた。これは 100% が耐性型を示した東南アジアと対照的である。アフリカはマラリアに対する免疫があるため、CQ の使用量が少ないことを反映していると推測される。[中野由美子、中曾根英子、田邊和裕（大阪大学微生物病研究所）]

(8) アフリカにおけるマラリア原虫 Pyr 耐性遺伝子 *dhfr* の遺伝的多型の解析

ピリメサミン(Pyr)耐性熱帯熱マラリアは 1980 年代後半から *in vivo* での耐性が報告されている。アーカイブ標本から *dhfr* の遺伝子型の同定を行ったところ、1980 年代から現在まで希少な単独変異(N51I または C59R)が同定された。その後 1990 年代に入って、単独変異は減少し、アジア由来の三重変異とアフリカ起源の二重変異が同定された。1993 年以降、マラウイ等のアフリカ諸国は CQ から Pyr に一次選択薬を切り替えたが、それ以前に三重変異株がアフリカに流入していたことが分かった。今

回のアフリカにおける耐性遺伝子型の同定は、これまでで最も古い年代となるとともに、CQ と Pyr 耐性熱帯熱マラリアは東南アジアから独立に移入したことを遺伝学的に証明した。[中野由美子、美田敏宏（東京女子医大）、中曾根英子、田邊和裕（大阪大学微生物病研究所）]

(9) 日本における三日熱マラリア再流行の可能性に関する研究

1970 年代に一度制圧されたが、1993 年以降韓国で再流行が続いている三日熱マラリアについて、日本国内での再流行の可能性を、ハマダラカ生息数の年次変化が記録されている富山県氷見地方と成田空港周辺のモデル地域で、数理モデルを作成して検討した。三日熱マラリア浸淫地からのヒトや蚊の移動による、日本での 2 次感染・再流行の可能性は、現在の気象条件やハマダラカの生息密度であれば、非常に低いことがわかった。しかし、今後気候・環境変化に伴って、ハマダラカの生息密度が急速に増加した場合、空港マラリアの発生から散発的 2 次感染が続く可能性を否定することはできない。[大前比呂思、石川洋文（岡山大学）、渡辺謙（富山衛生研究所）、長谷山路夫（成田空港検疫所）]

(10) 気候・環境変化に伴う世界的な三日熱マラリア再流行の可能性に関する研究

中国寄生虫症研究所と協力して、1990 年代の中国雲南省の温度・降水量変化と三日熱マラリア発生との関連について分析し、今後、亜熱帯・温帯地方における三日熱マラリア感染拡大を予測できる数理モデルの作成を試みた。まず、中国雲南省(40 地区)で、10 年間(1994 年 1 月~2003 年 12 月)観察された、日照時間・気温(最高、最低、平均)・降水量と三日熱マラリア発症者数の相関を分析した。さらに、多変量時系列解析手法を利用して、予測が現実になくなるようにモデルを修正し、数理モデルを構築した。観測された範囲では温度が高いほど発症者数も多くなったが、降雨量は 200 ミリ前後が最適で、それより多い場合や少ない場合、発症者数は少なくなる傾向が捉えられた。しかし、極端な患者数の変化については、構築したモデルで捉えることはできなかった。[大前比呂思、湯林華（中国寄生虫症研究所）、石川洋文（岡山大学）、笛田薫（岡山大学）、小野雅司（国立環境研究所）]

2. 蠕虫症の分子疫学的研究・調査

(1) アニサキス症の文献資料を用いた発生実態解析

我が国におけるアニサキス症の発生数を調べる目的で、医学中央雑誌(以下、医中誌)を検索エンジンとし、2001 年から 2009 年までに収録された日本語・英語の論文を対象に、「アニサキス症」というキーワードを用いて文献検索した。その結果、102 報の文献が検出され、これらから 130 例のアニサキス症例が抽出された(年平均で 14.4 例)。一方、医中誌検索で検出できなかった論文(唐澤ら、日本医事新報 4386, 68-74, 2008)に、2,511 例の症例が取り上げられていた(2001 年以降の 5 年間、年平均で 502 例)。アニサキス症の患者は年間に 2,000 例から 3,000 例の発生があると推察されてきた。文献調査だけでは、アニサキス症例の総てを発掘できないことが明らかとなった。[杉山広、賀川千里、森嶋康之、春日文子（国立衛研）]

(2) アニサキス症のレセプトデータを用いた発生実態解析

株式会社日本医療データセンターが保有するレセプト

のデータベースには、2005年から2008年に至る4年間の健康保険組合のデータ(約33万名分・5組合)が蓄積されている。このデータベースを用いて、我が国におけるアニサキス症の発生状況を推定した。今回はレセプトの傷病名に注目し、「アニサキス」を含むデータを検索した(アニサキス症・胃アニサキス症・腸アニサキス症・消化管アニサキス症・アニサキス幼虫移行症)。その結果、59名(年平均で14.75名)が抽出された。この数値を、当該組合加入者の性別・年齢階級別に振り分け、2005年の国勢調査に基づく全国の性別・年齢階級別の人口で拡大推計した。その結果、我が国で発生する年間のアニサキス症患者は、7,303名と推計された。[杉山広、賀川千里、森嶋康之、春日文子(国立衛研)、木村真也(日本医療データセンター)]

(3) チリ産サケ・マスにおける裂頭条虫属幼虫の感染状況調査

南米チリは、ノルウェーに次ぐ世界第2位の養殖サケ・マス生産国で、ニジマス(=トラウトサーモン)、ギンザケ、アトランティックサーモンの養殖が盛んに行われている。このチリ産養殖サケ・マスを感染源と推定される裂頭条虫症の集団発生が2005~2006年にブラジルで起きたことからブラジルでは公衆衛生上、問題になった。わが国も大量のチリ産養殖サケ・マスを輸入しており、これらを感染源とする裂頭条虫感染予防対策の観点から、チリ産養殖サケ・マスにおける裂頭条虫の寄生状況調査を行った。その結果、ギンザケにおいては、ヒトに寄生する広節裂頭条虫(*Diphyllbothrium latum*)と*Diphyllbothrium dendriticum*の幼虫(plerocercoid)寄生が確認されたが、ニジマスにおいては今回の調査では裂頭条虫幼虫の感染は確認されなかった。[山崎浩、川中正憲、荒川京子、森有加、加藤基恵(チリ大学歯学部)]

(4) ネパール・カトマンズにおける有鉤囊虫とエキノコックス感染状況調査

ネパールは宗教、文化、食習慣などを異にする民族で構成される国で、公衆衛生状況は劣悪で、食肉検査体制の不備によって寄生虫感染症の発生が後を絶たない。中でも、有鉤囊虫症は公衆衛生学上、重要な寄生虫感染症になっている。また、エキノコックス病変を有する豚肉や水牛肉は食肉衛生上問題であることから、これらの寄生虫汚染状況について、カトマンズ市内の養豚場に隣接する屠畜場で解体された豚や食肉屋の店頭に並ぶ豚肉、水牛肉を対象に有鉤囊虫とエキノコックス感染調査を実施した。得られた寄生虫材料についてはcox1遺伝子のハプロタイプ解析を行った。その結果、解析した9個体の有鉤囊虫についてはすべて同一のハプロタイプでインドやタイに分布する型と同じであった。また、豚の脾臓、ならびに水牛の肝臓から得られたエキノコックス2個体はいずれもcox1遺伝子解析から、単包虫(*Echinococcus granulosus sensu stricto*, G1, sheep strain)であることがネパールではじめて明らかにされた。[山崎浩、Durga D. Joshi(ネパール国立人獣共通感染症・食品衛生研究所)]

(5) ペットとして飼養されているアライグマのアライグマ回虫に関する調査

「外来生物法」により環境省に届出された飼養アライグマについて、飼養者へのアンケート調査と糞便検査を実施した。現在までに実施している国内野外捕獲アライグマのアライグマ回虫調査では、幸いにして陽性例の検

出はない。今回のペットアライグマ(127件 219頭対象)調査で、実際の糞便検査によりアライグマ回虫陰性の確認が実施出来たのは71件 85頭に止まった。また、展示施設等において飼育されているアライグマの一部では、現在もアライグマ回虫が存在するような可能性も否定できない。従って、万が一感染が確認された場合には、当該アライグマへの治療(駆虫)と共に、飼育者や施設外の動物への感染防止といった適切な飼育管理が重要であり、引き続き実態把握に努めていく必要がある。[川中正憲、山崎浩、杉山広、森嶋康之、荒川京子]

(6) 青森県のと畜場で検出された豚のエキノコックス(多包虫)について

平成10年8月及び10月に、青森県十和田食肉衛生検査所所管のと畜場に搬入された豚3頭が多包虫症と診断された。これらの感染豚はいずれも青森県内の同一農場から搬入されていたことから、多包虫の青森県での土着が疑われた。しかし、これら陽性豚の生産地に関しては、当該農場が自家繁殖豚のみならず家畜市場から購入した豚も保有しており、多包虫の青森県土着説の確認が必要であった。その後、同食肉衛生検査所において、当該農場からの豚を含む年間70万頭もの食肉検査を実施しながら、多包虫感染豚は全く検出されなかった。また、この10年間に実施された動物疫学調査では陽性例が確認されていない。そして、平成20年度末に同食検により、青森産ではなく北海道産の豚6頭より多包虫感染が確認された。従って、現時点では青森県において、多包虫の生活環が存在している可能性は低いと結論された。[木村政明(青森県健康福祉部)、東海林彰・立崎元・田中成子・原田邦弘・新井山潤一郎(青森県十和田食肉衛生検査所)、山崎浩、杉山広、森嶋康之、川中正憲]

III. 分類・同定

1. インド東北部で重要な人体寄生性肺吸虫の種同定

インド東北部のマニプール州では、*Paragonimus skrjabini*(スクリアビン肺吸虫)および*Paragonimus heterotremus*(ヒロクチ肺吸虫)という2種類の肺吸虫幼虫が中間宿主の淡水産カニから検出されている。このマニプール州と更に隣接のナガランド州では、患者の喀痰から肺吸虫卵が検出されていたが、原因種は不明であった。そこでアルコール固定された患者虫卵について、形態を観察し、塩基配列の解読・解析した。その結果、いずれもヒロクチ肺吸虫と同定された。本虫による人体症例は、ベトナム・タイ・ラオスなどからも報告がある。東南アジアから、更に南アジアに掛けての広い地域で、本虫は人体寄生種としての重要な役割を果たしていると考えられた。[杉山広、シャンティックマール・シン(シッキム医科大学・インド)]

2. 同胞種間で異なるアニサキスの感染リスク:魚体内における虫体主要寄生部位からの推定

我が国の人体症例由来のアニサキス虫体を同胞種レベルで解析すると、*Anisakis pegreffii*は極めて少なく、殆ど総てが*Anisakis simplex sensu stricto*(s. str.)であることが報告されている。一方で、我が国で水揚げされた魚介類からは、*A. pegreffii*と*A. simplex*s. str.とが共に検出されている。そこで、日本近海で漁獲されたマサバ29尾を詳細に検索して、虫体の検出部位を同胞種間で比較した。*A. simplex*s. str.と同定された虫体は85匹で、20匹(24%)が筋肉、65匹(76%)は内臓から検出された。一方、*A. pegreffii*と同定された895匹は、総て内臓から検出された。可食部の筋肉から検出される

アニサキスは、専ら *A. simplex* s. str. であり、その結果として本虫が人体感染を引き起こすと考えられた。[杉山広、梅原梓里、川上泰（麻布大）]

3. 中国青海省で流行する *Echinococcus granulosus* の遺伝子型

中国青海省の果洛チベット族自治州には 3 種の *Echinococcus* 属条虫が分布するが、とりわけ *E. granulosus* による単包虫症が公衆衛生上の大きな問題となっている。しかしながら、これまでその詳細な遺伝子型は不明であった。そこで今回、同自治州において採集された各宿主（イヌ・オオカミ・ヒツジ・ヤク・チベットガゼル）由来の 249 検体を用い、12S rRNA 領域を対象とした PCR 法により遺伝子型を決定したところ、すべて G1（狭義の *E. granulosus*）であることが明らかとなった。[森嶋康之、山崎浩、杉山広、川中正憲、韓秀敏・王虎（青海省 CDC）、余森海（中国 CDC）]

IV. 生理・生化学・分子生物学

1. 原虫症の病原機構・生物学にかかる研究

(1) 自由生活性アメーバの病原機構・生物学にかかる研究

アカントアメーバ性角膜炎の病理として、角膜実質層内における炎症および潰瘍形成の過程は重要である。前年度、ヒト培養角膜実質細胞 (HCSC) に対するアメーバの細胞障害性 (CPE) が明らかであることを示したことから、本年度はマイクロプレート培養系を用いて、実質細胞の CPE を定量的に解析するアッセイ系を構築した。これまでのところ角膜炎分離株間では CPE 発現に大きな差はみられていない。今後、このアッセイ系を用いることで CPE 阻害要因の検索、またアメーバ分離株の遺伝学的タイプと病原性の関連性を明らかにする。[高岡紀子（東京女子医大東医療センター）、八木田健司]

(2) 赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア. 赤痢アメーバの貪食と脂質シグナルをつなぐ EhFP4 の解析

赤痢アメーバの貪食時に、フォスファチジルイノシトール 3-リン酸 (PtdIns3P) と、PtdIns3P に結合するドメインである FYVE ドメインと RhoGEF ドメインを持つタンパク質 EhFP4 が貪食胞に動員されることを見出した。EhFP4 の機能を知るためその脂質結合特異性を検討したところ、全長で PtdIns4P へ結合した。予想に反してこの結合は FYVE ドメインではなく、その下流の C 末端領域により担われていた。さらに点変異を導入した FYVE ドメインを持つ EhFP4 では PtdIns4P だけでなく、PtdIns3P, PtdIns5P へも結合した。EhFP4FYVE ドメインを発現する赤痢アメーバ株では、動物細胞に対する貪食活性が低下した。これは FYVE ドメインの強発現によるドミナントネガティブ効果と考えられた。以上の結果より、EhFP4 は PtdIns4P もしくはその他のシグナルに応じて貪食胞へ動員され、貪食を活性化させていると考えられた。[津久井久美子、野崎智義]

イ. 赤痢アメーバ薬剤耐性に関与する遺伝子のトランスクリプトーム解析

現在抗赤痢アメーバ薬としてメタロニダゾールが唯一の薬として使用されているが、特に発展途上国での濫用があり、薬剤耐性株の出現が危惧される。そこで実験室で作成したメタロニダゾール耐性株を用い、トランスクリプトーム解析から、薬剤耐性に関与する遺伝子の特

定を試みた。もっとも変動があった遺伝子が EHI_092110 (hypothetical protein) であり、耐性株で 83 倍発現上昇がみられた。酸化還元制御に関わる遺伝子としては EHI_045340 (glutamate synthase beta subunit) : 7.2x 低下、EHI_067720 等 (iron-sulfur flavoprotein) : 2.3 ~ 2.7x 低下、EHI_021570 (serine acetyltransferase 1) : 2.8x 上昇、EHI_171750 (cysteine synthase 2) : 1.4x 低下、といった遺伝子で発現差があった。よってメタロニダゾール耐性株では酸化ストレスを緩和する分子システムが作動していると考えられた。しかし変動の大きい遺伝子群 (5 倍以上) では多くが機能未知の分子であった。よって酸化ストレス以外の環境適応システムが存在する可能性がある。[Gil Penuliar、津久井久美子、野崎智義]

ウ. 赤痢アメーバシステインプロテアーゼ輸送機構の解明

赤痢アメーバの重要な病原因子であるシステインプロテアーゼ (CP) の輸送に関与すると考えられる分子 CPBF1 を同定し、解析を行った。HA-tag を付けた CPBF1 の細胞内局在は、定常状態では小胞体と小胞膜上に、動物細胞貪食後には一部の貪食胞に動員された。しかしリソソームとの共局在はほとんど観察されなかったことから、CPBF1 は CP5 を小胞体から成熟前のリソソームやファゴソームへ輸送する受容体であると考えられた。また、CPBF1 の C 末端部分に保存されていた、アダプタータンパク質 (AP) との結モチーフとして知られる YxxΦモチーフを AxxA に置換した変異体を作成し、このモチーフの CPBF1 輸送における役割を検討した。しかしその局在は野生型の CPBF1 と変化がなく、YxxΦモチーフの CPBF1 輸送への関与は明らかでない。赤痢アメーバには AP やクラスリンが保存されているが、今回の解析で見逃した変化が存在したか、新規のアダプター分子がその輸送を制御していることが示唆された。[津久井久美子、古川敦、坪井久美子、野崎智義]

エ. 赤痢アメーバ pyridine nucleotide transhydrogenase (PNT) の解析

赤痢アメーバは嫌気呼吸をし、典型的なミトコンドリアを持たない。しかしミトコンドリアに存在するいくつかの分子を持ち、それらが直径約 100~200nm のマイトソームというオルガネラに集積していることが示唆されている。PNT は他種生物でミトコンドリアに存在するトランスポーターでありながら、以前行われた貪食胞のプロテオーム解析で最もペプチド数の多いタンパク質として見出されていた。そこで PNT 抗体を作成し、局在を検討した。定常状態で小胞状とドット状の局在を見せ、さらに貪食胞、エンドソーム、リソソームとの一部共局在が観察された。しかしマイトソームマーカーである CPN60 との共局在は無く、赤痢アメーバにおいて、PNT はミトコンドリアではなく、タンパク質分解に関わるオルガネラに局在することが示された。また、N 末部分にシグナル配列と予想される部分があったためシグナル配列と GFP との融合タンパク質を発現させその局在を確認したところ細胞質へ局在した。よって PNT はマイトソームタンパク質ではなくリソソーム形成に関わり、その役割は赤痢アメーバで独自に進化していると考えられた。[Mohammad Abu Yousuf、三田村文香、津久井久美子、野崎智義]

オ. 赤痢アメーバのミトコンドリア関連オルガネラの機能の解析

赤痢アメーバ原虫は単細胞真核生物であるが、典型的なミトコンドリアを持たない。かわりにマイトソームと呼ばれるミトコンドリア関連オルガネラ（嫌気性の原生生物にみられる退化したミトコンドリア）を持つ。シャペロン3種類、トランスポーター1種類の蛋白質がマイトソームに局在すると報告されていたが、これだけではマイトソームの生理的意義を議論することは難しい。そこで赤痢アメーバマイトソームの本来の生理的機能を明らかにすることを目的に研究を行い、プロテオーム解析により新たなマイトソーム蛋白質として硫酸活性化経路の酵素を見出した。そして硫酸活性化経路が確かにマイトソームに局在していることを、免疫蛍光法および、活性測定により確認した。硫酸活性化経路は、通常は細胞質・色素体に存在する。他の嫌気性原生生物のミトコンドリア関連オルガネラにも硫酸活性化経路は存在せず、赤痢アメーバ原虫の酵素の起源が α -proteobacteriaと異なることから、赤痢アメーバ原虫のオルガネラは、単にミトコンドリアが退化したものではなく、進化の過程で硫酸活性化経路を取り込み、独自に進化したと考えられる。赤痢アメーバにユニークなオルガネラの同定は、新しい抗赤痢アメーバ薬剤の開発に繋がる可能性を有する。

[三田村文香、津久井久美子、Mohammad Abu Yousuf、野崎智義]

カ. 赤痢アメーバ臨床分離株のゲノム解析

赤痢アメーバは遺伝的に多様な株の集合であり、感染により起こる症状も無症候ー腸炎ー肝膿瘍と様々である。株間のゲノム情報の相違を明らかにすることを目的に、無症候性症例と腸炎症例とから得られた2種類の分離株を用いて、illumina 次世代シーケンサーによるゲノム解読を行った。その結果、腸炎株に存在し、無症候性株に存在しないタンパク質コード領域約30種類が同定された。今後、病原性・臓器親和性に関する遺伝子群が同定されることが期待される。[関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム）、津久井久美子、Aleyla Escueta-de Caz、野崎智義]

キ. 赤痢アメーバのメタボローム解析

赤痢アメーバにおける中心代謝を理解することを目的に、CE-ToFMSを用いた網羅的代謝産物の定量解析を行った。これにより、細胞外のL-cysteine濃度の減少に伴い、いくつかの代謝経路が影響を受けることが明らかとなった。例えば、解糖経路では代謝の上流の代謝物が蓄積するのに対し、発酵最終産物やそのすぐ上流のAcetylCoAなどの濃度は減少していた。また、リン脂質代謝やアミノ酸代謝にも明瞭な影響が見られた。[Afzal Husain, Ghulam Jeelani, 佐藤暖、末松誠、曾我朋義（慶応大学）、野崎智義]

ク. 赤痢アメーバのスフィンゴミエリン代謝に関する解析

赤痢アメーバ栄養型における脂質代謝を理解することを目的に、赤痢アメーバから中性及び酸性スフィンゴミエリン分解酵素を同定し、組換え酵素を用いて酵素学的な特質を明らかにした。[Claudia Leticia Macias Mendoza, 津久井久美子、中野由美子、野崎智義]

ケ. 食食を行う原虫に見出される膜輸送の多様化

赤痢アメーバにおいて病原因子の分泌や宿主細胞の食食など、膜輸送は病原性で重要な役割を担っている。また赤痢アメーバや細胞性粘菌などのアメーバには、細胞

内輸送に関与する遺伝子の数が多細胞生物よりも多様化していることが報告されていた。膜融合を調節する低分子量GTPaseであるRabの数をゲノムが公開されている原虫で検索したところ、単細胞の原虫（マラリア、トリパノソーマ、ジアルジア、クリプトスポリジウム）では出芽酵母とほぼ同等の数のRabをコードしていた。Rabのアミノ酸配列を元に細胞内局在を推定したところ、寄生性原虫では輸送経路に単純化が起きていることが推測された。一方で食食能がある原生生物（赤痢アメーバ、トリコモナス、テトラヒメナ、ゾウリムシ）では、ヒトや高等植物よりもはるかに多いRabがコードされていた。これらの原虫ではRabだけでなく、細胞内輸送に関与する遺伝子全体が増幅していた。食食という膜のダイナミクスを要する現象には、メンブレントラフィック全体の遺伝子のレパートリーが増幅する必要であったと考えられる。

[中野由美子、野崎智義、沼田治（筑波大）、中野賢太郎（筑波大）]

(3) フラスコ培養法による腸管寄生性微胞子虫 *Encephalitozoon intestinalis* に対するオゾンの不活化効果の確認

Encephalitozoon intestinalis は腸管寄生性微胞子虫であり水系感染症の重要な起因病原体の一つである。前報では、BS-C-1細胞を接着させた24穴プレートを用いて同虫に対する殺菌剤等の不活化効果を調べ、オゾンでは0.1 ppm・5分、0.2 ppm・2分の曝露により99.9%不活化が得られることを報告した（Jpn. J. Infect. Dis., 62, 413, 2009）。今回、同細胞接着25 cm² フラスコに、0.1あるいは0.2 ppm オゾン曝露（0, 0.5, 1, 2, 5, 10分）させた胞子を接種後0, 3, 10, 17, 24, 31日目の培養上清中胞子数と31日目の細胞内 spore foci 数を測定した結果について分析したところ、0.1 ppm オゾン10分曝露胞子、0.2 ppm オゾン5および10分曝露胞子で経過に伴い31日目まで数の曲線的減衰を認めた。これらのフラスコには spore foci は不形成であった。他の曝露条件では、24, 31日目に胞子数増加の立ち上がりで spore foci の形成がみられた。その結果、胞子数の曲線的減衰はオゾンによる同虫の不活化を反映したものと考えられた。フラスコ培養法による時間経過に伴う上清中胞子数の減衰曲線解析と最終的に培養細胞内に形成された spore foci 数の測定は、*E. intestinalis* 胞子に対する殺菌剤等の不活化効果を確認する有用な方法と思われた。[朝倉登喜子、古屋宏二、泉山信司、八木田健司]

(4) トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア. 植物ホルモンジベレリン合成阻害薬によるトキソプラズマの増殖阻害効果

我々は最近、トキソプラズマが植物ホルモンであるアブシジン酸を産生し、自身の増殖や分化の調節に用いていることを明らかにした。また、アピコンプレクス門に属する原虫であるトキソプラズマやマラリア原虫がいくつかの植物ホルモン阻害薬により増殖が阻害されることを示した。これらの結果はアピコンプレクス門原虫がアブシジン酸以外の植物ホルモンを産生し、増殖の制御に用いている可能性を示唆している。そこで本研究では、植物ホルモンの一種であるジベレリン生合成阻害剤がトキソプラズマに与える影響について検討をおこなった。

トキソプラズマのタキゾイトをジベレリン生合成阻害

剤存在下で培養したところ、その分裂が阻害され、トキソプラズマの増殖が著しく抑制された。この増殖抑制メカニズム解明のため、まず、ジベレリン生合成阻害剤処理したトキソプラズマを電子顕微鏡解析により詳細に観察した。すると、被処理トキソプラズマの lipid body 様の構造の増加と肥大、及び、トキソプラズマミトコンドリアの膨張とクリステの構造の崩壊が観察された。さらに、トキソプラズマのコレステロールの総量を測定したところ、被処理トキソプラズマでは、コレステロール総量が通常の約2倍になっていた。一方、ナイルレッド染色による蛍光顕微鏡観察では、被処理トキソプラズマは膜構造が染まらず、lipid body のみが強く染色され、その数も増加していた。現在これらの現象がトキソプラズマの分裂にどのように関わっているのかについて、解析を進めている。[青沼宏佳、永宗喜三郎]

イ. 植物ホルモンサイトカイニンによるトキソプラズマの増殖制御機構の解明

サイトカイニンには植物が自然界で生合成しているものと人工合成されたものに大別でき、いずれも細胞分裂の促進、光合成の活性化、葉緑体の分化・増殖といった作用を持つことが知られている。そこでそれぞれのサイトカイニンをトキソプラズマの培養中に添加し、原虫の増殖率を測定したところ、天然サイトカイニン (trans-zeatin) は、高等植物の知見から期待されるとおり原虫の増殖が促進したが、合成サイトカイニン (thidiazuron) は逆に原虫の増殖を阻害した。また高等植物において、サイトカイニンはある種のサイクリンの発現量を調節することで細胞周期を制御していることが知られている。そこで我々はトキソプラズマのゲノム・データベースから全てのサイクリン様遺伝子を同定し、それらのサイトカイニン添加による発現量の変化をqPCRにより経時的に観察した。その結果、ある特定のサイクリンの発現量が trans-zeatin 処理により1,000倍以上上昇し、thidiazuron 処理により約100倍減少していた。また、FACSによる解析から、trans-zeatin は原虫の細胞周期のうちG1期からG2期への移行を誘導し、thidiazuron は逆にG2期への移行を阻害していた。さらに通常原虫内に1つしか観察されないアピコプラストが trans-zeatin 処理によりその数が劇的に上昇し、thidiazuron 処理により消失した。これらの結果からトキソプラズマにおいて植物ホルモンであるサイトカイニンは、ある特定のサイクリンの発現を制御することで、原虫の細胞周期自体と、細胞周期の進行と厳密にリンクしているアピコプラストの分裂のタイミングを調節しているものと考えられた。[Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎]

ウ. 宿主細胞 GPI がトキソプラズマ感染に与える影響の解析

宿主側の GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響を調べるため、GPI アンカー生合成能欠失変異 CHO 細胞における原虫への感受性を野生株と比較した。その結果、変異株は野生株に対して有意に感受性が上昇していた。また野生株と変異株では、原虫の宿主細胞への侵入過程及び感染前期の増殖においては差が認められず、感染後期の増殖のみに差が認められた。また、宿主細胞からの脱出の過程にも差は認められなかった。これらのことから、宿主の GPI アンカーあるいは GPI アンカー型蛋白質が、原虫の増殖のうち後期の増殖のみを特異的に阻害している可能性が示唆された。

トキソプラズマ原虫は宿主細胞内での増殖の際、自身

の周囲に宿主のミトコンドリアや ER をリクルートしてくるという現象が知られている。そこでこれらの細胞内における原虫の宿主ミトコンドリア・リクルート能を比較したところ、明らかに変異株内でのリクルートが増加していた。次にミトコンドリアや ER のリクルートメントの原因であると考えられているロプトリー蛋白質に着目した。ロプトリー蛋白質は原虫の宿主侵入に先立ち、独立した小胞 (evacuole) として原虫から宿主細胞に注入されることが知られている。原虫による ROP1 及び ROP16 を含む evacuole 形成能を宿主の GPI の有無で比較したところ、GPI 生合成能欠失変異株では明らかに evacuole の形成が過剰になっていた。[田原美智留、永宗喜三郎]

(5) アピコンプレキサ特異的な膜輸送

赤内期のマラリア原虫は寄生胞膜を介して赤血球細胞質中のヘモグロビンをエンドサイトーシスし、栄養源を摂取する。マラリア原虫のエンドサイトーシスには低分子量GTPaseのPfRab5aが関与することが報告されている。ゲノムの検索により、PfRab5には3つのアイソタイプが存在し、その中のPfRab5bは膜への結合がN末端のミリストイル化に依存することが分かった。熱帯熱マラリアだけでなく、ミリストイル化されるRab5bを持つ原虫は、全てのマラリア原虫種に保存すると共に、他のアピコンプレキサ (*Toxoplasma gondii*, *Babesia bovis*) にも保存されていた。一方で、細胞内のRabのレパートリーが単純化したアピコンプレキサ (*Theileria annulata*, *Cryptosporidium parvum*) またはアルベオラータ生物群に分類される繊毛虫 (*Tetrahymena thermophila*, *Paramecium tetraurelia*) にはRab5の多様化ならびにN末端のミリストイル化は存在しなかった。熱帯熱マラリア原虫におけるRab5bの機能を解析するために、FCR3株のトロフォゾイト/スカイゾント期よりcDNAを合成し、クローニングを試みた。最も発現の高いPfRab5アイソタイプは5aであり、次にPfRab5cの発現が高かった。PfRab5bは最も発現量が少ないもののトロフォゾイト/スカイゾント期に発現していることが確認された。[中野由美子、駒木-安田加奈子 (国際医療センター)]

2. 蠕虫症の病原機構・生物学にかかる研究

(1) 有鉤囊虫システインプロテアーゼの in situ における発現様態の組織化学的解析

有鉤囊虫はヒトの脳など中枢神経系に寄生すると、癲癇発作、麻痺、発語障害などの症状が見られ、囊虫寄生部位周辺の組織では、浮腫や炎症性細胞の集積が認められる。これらの病理学的変化の原因として、有鉤囊虫のカテプシンL様システインプロテアーゼ (以下、カテプシンL) の関与が考えられている。カテプシンLは細胞障害性の高いプロテアーゼであり、囊虫液中に強い酵素活性が検出されることから、囊虫が変性、死滅する過程において虫体より漏出し、これが周辺組織の浮腫など囊虫症の病態に関与することが示唆されている。

このカテプシンLの組織内における局在は不明であったので、カテプシンLの細胞内局在性を解明するために、有鉤囊虫カテプシンL特異的ペプチド抗体を作成し、これを用いて免疫染色を行った。その結果、カテプシンLは有鉤囊虫においては、頭節の吸盤を構成する筋組織、囊胞壁の外層、内層、柔組織内に局在していた。一方、成虫では、片節組織よりはむしろ子宮内虫卵、とりわけ六鉤幼虫で強いシグナルが検出され、発生の早い時期からすでに発現していることが明らかになった。このことは虫卵から孵化した六鉤幼虫が組織に定着・侵入時にも

カテプシンLが関与している可能性が示唆された。
[山崎浩、森有加、森嶋康之、杉山広、李远林・罗天鹏（雲南省大理州血吸虫病防治研究所）、千葉厚郎（杏林大・医・脳神経内科）]

(2) チリ産裂頭条虫属幼虫プレロセルコイドの *cox1* 遺伝子のハプロタイプ解析

南米チリの南部に位置する Llanquihue 湖で捕獲されたギンザケ (*Oncorhynchus kisutch*) の胃や筋肉から採取された広節裂頭条虫 (*D. latum*) と *D. dendriticum* の幼虫 (plerocercoid)、それぞれ 2、58 個体について *cox1* 遺伝子のハプロタイプ解析を行ったところ、広節裂頭条虫のハプロタイプは同一で、多様性は認められなかったが、*D. dendriticum* については、少なくとも 10 個の異なるハプロタイプが検出され、特定のハプロタイプが優占的に検出され、裂頭条虫の種によって個体群構造が異なるという興味深い知見が得られた。[山崎浩、川中正憲、荒川京子、森有加、加藤基恵（チリ大学歯学部）]

寄生虫症依頼検査業務

1. 消化管寄生性原虫類および病原性アメーバ類の検査
海外渡航者および HIV 感染者を中心に、下痢症の確定診断を目的として原因となる原虫の検査を行っている。本年度は 69 検体を検査し、赤痢アメーバ、クリプトスポリジウム、ジアルジア、サイクロスポラを検出した。
また国内で発生するアメーバ性角膜炎ならびにアメーバ性脳炎に関する検査診断を行っており、角膜擦過物、コンタクトレンズ保存液等角膜炎関連の検体については本年度 30 検体を検査し、アカントアメーバを検出あるいは同定し、株の分離を行った。またアメーバ性脳炎に関連しては 1 検体を検査した。[八木田健司、泉山信司、津久井久美子]

I. 血清を用いた寄生虫抗体検査

線虫 8 種（ドロレス顎口虫、犬回虫、犬鉤虫、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫）、条虫 4 種（有鉤囊虫、マンソン弧虫、多包虫、単包虫）、吸虫 6 種（ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、肝吸虫、日本住血吸虫、マンソン住血吸虫）の抗原を用いた抗体検査が可能であり、通常は ELISA（酵素抗体法）を実施しているが、寄生虫症によって、dot-blot、western blot（有鉤囊虫症、エキノコックス症）、あるいは虫体切片標本を用いた免疫染色検査（旋尾線虫症）を行っている。計 39 血清サンプルのうち、14 検体で特異抗体が検出された。内訳は肺吸虫症 (5)、有鉤囊虫症 (4)、トキソカラ症 (3)、幼線虫移行症 (1)、マンソン弧虫症 (1)。[山崎浩、森有加、杉山広、森嶋康之]

II. 遺伝子解析による寄生虫分子同定

自然排出あるいは駆虫された虫体、あるいはパラフィン包埋標本中に見出された虫体の同定依頼が 20 件あり、ミトコンドリア DNA の *cox1* 遺伝子の解析結果に基づいて種の同定を行った。20 件の内訳は、日本海裂頭条虫 (11)、有鉤囊虫 (4)、無鉤条虫 (1)、多包条虫 (1)、有鉤条虫 (1)、鯨複殖門条虫 (1)、アメリカ鉤虫 (1) であり、傾向としては、サケ・マスの刺身や寿司を好む日本人の食生活習慣を反映して、日本海裂頭条虫症が多かった。また、輸入症例として有鉤囊虫症と無鉤条虫症、アメリカ鉤虫症があった。特記すべきは、有鉤囊虫症の 1 例は有鉤条虫症との重複感染例であった。[山崎浩、森有加、杉山広、森嶋康之]

レファレンス業務

I. 衛生微生物技術協議会・レファレンスセンター会議

第 30 回衛生微生物技術協議会において寄生虫に関するレファレンスセンター会議を行った。食品媒介寄生性寄生虫症の現況と対応気候、環境変化に伴う寄生虫症の変容、プール等で感染する可能性のある寄生虫症、赤痢アメーバ症の現状と検査体制を中心とした話題を提供し議論した。(2009 年 7 月 9-10 日、堺市)

[八木田健司、山崎浩、杉山広、大前比呂思、野崎智義]

II. 原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関（医療機関、地方衛生研究所等）の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。[八木田健司、泉山信司]

研修

I. 平成 21 年度希少感染症診断技術研修会において、トキソプラズマ症の最近の話題について講義した。(2010 年 2 月 25-26 日) [永宗喜三郎]

II. 平成 21 年度水道クリプトスポリジウム試験法実習

(国立保健医療科学院主催) にて、水道原水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った。その他、地研からの要請に対して適宜行った。[八木田健司、泉山信司]

III. 平成 21 年度細菌研修コース（国立保健医療科学院主催）にて、寄生性原虫類概論について講義した。[八木田健司]

IV. JICA 中米血液スクリーニングコースの受講生に対して、LAMP 法による遺伝子検査法の講義と実習を行った。[大前比呂思、泉山信司、布施晃（血液・安全性研究部）]

V. 平成 21 年度新興再興感染症希少感染症研究会にて、全国の地方衛生研究所などの職員・技師約 180 名を対象に、「トキソカラ症とイヌ糸状虫症」に関する講演を行った (2010 年 2 月 26 日、感染研・村山庁舎) [山崎浩]

VI. 国立保健医療科学院・食肉衛生検査研修コースにて、「旋毛虫病その他の寄生虫病」について講義を行った (2009 年 7 月 13 日、国立保健医療科学院) [川中正憲]

VII. 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム「臨床や公衆衛生の現場で問題となる寄生虫症の考え方」に関する研修を行った。[大前比呂思]

VIII. Field Epidemiology Training Program (FETP)

初期研修に協力し、「国際的な寄生虫症対策と疫学の変化」に関する研修を行った。[大前比呂思]

IX. 国際協力機構 (JICA) のアフリカ向け研修コース

地域保健システム強化による感染症対策に協力して、「寄生虫症のサーベイランスと対策」に関する研修を行った。[大前比呂思]

国際協力関係業務

I. 中国科学院生態環境研究所クリプトスポリジウム実習

試料機材用意、実習講義等の各種協力を行った。[泉山信司、遠藤卓郎（細菌第一部）、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所）、浅見真理（国立保健医療科学院水道工学部）]

II. 国際的な寄生蠕虫症対策への貢献

WHO は、世界的にみて感染者が多いのにも関わらず、今まであまり注目を集めてこなかった感染症を Neglected Tropical Diseases (NTDs) とし、最近その対策に力を入れている。NTDs 対策のうち、特に寄生蠕虫症対策に着目した WHO 主催の TDR Regional Consultation in Infectious Diseases of Poverty in Asian Countries とアジア開発銀行が主催する Evaluation of parasitic diseases control programs in Mekong region に招聘され、治療的介入でメコン住血吸虫症が制圧される可能性と、免疫血清検査を住血吸虫低浸淫地でコントロールの指標として用いる意義について報告した。会議では、多くの寄生蠕虫症対策で治療的介入を中心とした成果がある一方、従来の疫学的指標の限界が明らかになっている問題点を共有し、今後のモニタリング手法に対する研究の重要性を確認して、他の参加者とともに報告書を作成した。[大前比呂思]

III. アジアにおけるマラリアの疫学と対策に関する共同研究と情報共有の促進

アジア諸国の研究機関とのネットワークを強化し、情報や研究成果の共有をさらに進めるため、2011年1月29～31日には、11カ国から14の研究機関の参加を得て、中国寄生虫症研究所、中国 CDC と国立感染症研究所が共催する第2回アジア・太平洋地域三日熱マラリア国際会議 (The 2nd International Conference on Vivax malaria in Asia and Pacific area) を上海で開いた。参加国・参加地域におけるマラリアの流行状況や対策に関する情報交換を進めるとともに、2008年の前回国際会議で重点的に研究を進める分野とされた、三日熱マラリアにおける臨床診断・迅速診断法の意義・LAMP法のフィールド応用・プリマキン集団治療の効果などの項目については、詳細な報告と討議がなされた。そのうち、三日熱マラリア診断に関する迅速診断キットの限界については、ソロモン諸島での実例に即して報告した。[大前比呂思、湯林華（中国寄生虫症研究所）]

IV. メコン川流域における住血吸虫症対策への協力

ラオス・カンボジア国境付近のメコン川中流域に広がるメコン住血吸虫症対策に協力した。カンボジアの浸淫地であるクラチエ省では、ブラジカンテルの集団治療の継続の結果、2004年以降新規感染者がゼロの状態が続いていたが、2009年にメコン住血吸虫卵抗原による免疫血清検査 (ELISA) を実施した8村落で、抗体陽性率は6.7%～72.5%を示した。高い抗体陽性率を示した2村落では7%の児童に糞便内虫卵が確認された。メコン住血吸虫浸淫地では、未だ感染の機会が多い地域が点在しているが、免疫血清検査によるモニタリングは、住血吸虫症対策の進展の中で部分的に残った高リスク地域の検出に有用なことがわかった。[大前比呂思、千種雄一（獨協医大）、桐木雅史（獨協医大）、Duon Socheat (National Center for Control of Malaria and Vector Borne Diseases)]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説（欧文）
- 1) Nakada-Tsukui, K., Okada, H., Mitra, B. N., and Nozaki, T. Phosphatidylinositol-phosphates mediate cytoskeletal reorganization during phagocytosis via a unique modular protein consisting of RhoGEF/DH and FYVE domains in the parasitic protozoan *Entamoeba histolytica*. Cell. Microbiol., 11, 1471-1491, 2009.
- 2) Sato, D. and Nozaki, T. Methionine gamma-lyase: the unique reaction mechanism, physiological roles, and therapeutic applications against infectious diseases and cancers. IUBMB Life, 61, 1019-1028, 2009.
- 3) Mi-ichi, F., Yousuf, M. A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Mitosomes in *Entamoeba histolytica* contain a sulfate activation pathway. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 106, 21731-21736, 2009.
- 4) Sato, D., Kobayashi, S., Yasui, H., Shibata, N., Toru, T., Yamamoto, M., Tokoro, G., Ali, V., Soga, T., Takeuchi, T., Suematsu, M., and Nozaki, T. Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine to the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Int. J. Antimicrob. Agents, 35, 56-61, 2010.
- 5) Escueta-de Cadiz, A., Kobayashi, S., Takeuchi, T., Tachibana, H., and Nozaki, T. Identification of an avirulent *Entamoeba histolytica* strain with unique tRNA-linked short tandem repeat markers. Parasitol. Int., 59, 75-81, 2010.
- 6) Maralikova, B., Ali, V., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., van der Giezen, M., Henze, K., and Tovar, J. Bacterial-type oxygen detoxification and iron-sulphur cluster assembly in amoebal relict mitochondria. Cell. Microbiol., 12, 331-342, 2010.
- 7) Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., Ali, V., and Nozaki, T. Characterization of two isotypes of L-threonine dehydratase from *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol., 170, 100-104, 2010.
- 8) Mendoza-Macías, C. L., Barrios-Ceballos, M. P., Anaya-Velázquez, F., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., and Padilla-Vaca, F. *Entamoeba histolytica*: molecular cloning and characterization of a novel neutral sphingomyelinase. Exp. Parasitol., 125, 279-285, 2010.
- 9) Khan, S. M., Debnath, C., Pramanik, A. K., Xiao, L., Nozaki, T., and Ganguly, G. Molecular characterization and assessment of zoonotic transmission of *Cryptosporidium* from dairy cattle in West Bengal, India. Vet. Parasitol., 2010. In press
- 10) Mishra, V., Ali, V., Nozaki, T., and Bhakuni, V. *Entamoeba histolytica* phosphoserine aminotransferase (EhPSAT): Insights into the structure-function relationship. BMC Res. Note, 3, 52, doi:10.1186/1756-0500-3-52, 2010.
- 11) Hirakawa, Y., Nagamune, K., and Ishida, K. Protein targeting into secondary plastids of chlorarachniophytes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 106, 12820-12825, 2009.
- 12) Inomata, A., Kishida, N., Momoda, T., Akiba, S.,

- Izumiyama, S., Yagita, K. and Endo, T. Development and evaluation of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and high-sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples. *Water Sci. Technol.*, 60, 2167-2172, 2009.
- 13) Izumiyama S, Omura M, Takasaki T, Ohmae H, Asahi H. *Plasmodium falciparum*: development and validation of a measure of intraerythrocytic growth using SYBR Green I in a flow cytometer. *Exp. Parasitol.*, 121, 144-150, 2009.
- 14) Nakada-Tsukui, K., Kobayashi, Y., and Watanabe, N. Characterization of a cDNA encoding guinea pig I3 associated with the delayed-type hypersensitivity reaction. *Zoolog. Sci.*, 26, 617-622, 2009.
- 15) Furuya, K., Asakura, T., Igarashi, M., Morita, T. Microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* antibodies in rabbit urine samples. *Vet. Rec.*, 165, 85-86, 2009.
- 16) Furuya K. Spore-forming microsporidian *Encephalitozoon*: Current understanding of infection and prevention in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62, 413-422, 2009.
- 17) Sugiyama H., Umehara A., Morishima Y., Yamasaki H., Kawanaka M. Detection of *Paragonimus metacercariae* in Japanese freshwater crabs, *Geothelphusa dehaani*, bought at retail fish markets in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62, 324-325, 2009.
- 18) Takeda M., Sugiyama H., Qian B.-Z. Records of three species of freshwater crabs from China. *J. Teikyo Heisei Univ.*, 20, 193-202, 2009.
- 19) Sakudoh T., Iizuka T., Narukawa J., Sezutsu H., Kobayashi I., Kuwazaki S., Banno Y., Kitamura A., Sugiyama H., Takada N., Fujimoto H., Kadono-Okuda K., Mita K., Tamura T., Yamamoto K., Tsuchida K. A CD-36 related transmembrane protein is coordinated with an intracellular lipid-binding protein in selective carotenoid transport for cocoon coloration. *J. Biol. Chem.*, 285, 7739-7751, 2010.
- 20) Shirakawa K., Yamasaki H., Ito A., Miyajima H. Cerebral sparganosis: The wandering lesion. *Neurology*, 74, 180, 2010.
- 21) Mercado R., Yamasaki H., Kato M., Muñoz V., Sagua H., Torres P., Castillo D. Molecular identification of the *Diphyllobothrium* species causing diphyllobothriasis in Chilean patients. *Parasitol. Res.*, 106, 995-1000, 2010.
- 22) Kimura M., Toukairin A, Tachizaki H., Tanaka S., Harada K., Araiya J., Yamasaki H., Sugiyama H., Morishima Y., and Kawanaka M. *Echinococcus multilocularis* detected in slaughter pigs in Aomori, northernmost prefecture of mainland Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 63, 80-81, 2010.
- 23) Hasan, A.U., Suguri, S., Sattabongkot, J., Fujimoto, C., Amakawa, M., Harada, M., Ohmae, H. Implementation of a novel PCR based method for detecting malaria parasites from naturally infected mosquitoes in Papua New Guinea. *Malar J.*, 8, 182, 2009
- 24) Nakagawa, Y., Ueki, M., Fueda, K., Ishikawa, H., Ohmae, H. Risk assessment of re-emerging *Plasmodium falciparum* on Ishigaki Island using a stochastic model. *Trop. Med. Health*, 37, 97-107, 2009
2. 原著論文、総説 (和文)
- 1) 永宗喜三郎. 植物としてのトキソプラズマ原虫: 植物ホルモンとカルシウムシグナリング, 蛋白質 核酸 酵素. 54, 1047-1052, 2009.
- 2) 青沼宏佳, 田原美智留, 永宗喜三郎. トキソプラズマ、増殖の仕組み. *医事新報*. 4489, 39-43, 2009.
- 3) 烏谷竜哉, 黒木俊郎, 大谷勝美, 山口誠一, 佐々木美江, 齊藤志保子, 藤田雅弘, 杉山寛治, 中嶋 洋, 村上光一, 田栗利紹, 蔵元 強, 倉 文明, 八木田健司, 泉山信司, 前川純子, 山崎利雄, 縣 邦雄, 井上博雄. 掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子. *感染症学雑誌*, 83, 36-44, 2009.
- 4) 杉山 広. 食習慣を背景に発生する我が国の肺吸虫症. *Clin. Parasitol. (臨床寄生虫学会誌)*. 20, 9-11, 2009.
- 5) 寺島 剛, 竹内英二, 西尾久明, 石川将史, 山本徳栄, 荒木 潤, 杉山 広. 肺切除で宮崎肺吸虫の虫嚢内寄生を認めた1例. *Clin. Parasitol. (臨床寄生虫学会誌)*. 20, 43-46, 2009.
- 6) 梅原梓里, 荒木 潤, 川上 泰, 内田明彦, 杉山 広. アニサキスの分類学的解析: 人への感染源の特定に向けたサバ由来虫体の検索. *獣医寄生虫学会誌*. 8, 52, 2009.
- 7) 多々良成紀, 杉山 広, 熊澤秀雄, 斑目広郎. 動物園飼育ミーアキャットにおける宮崎 肺吸虫症の1例. *日本野生動物医学会誌*. 15, 45-47, 2010.
- 8) 杉山 広. 食品媒介寄生虫による食中毒. *日本食品微生物学雑誌*. 27, 1-7, 2010.
- 9) 山崎 浩, 川中正憲, 荒川京子, 森 有加, 杉山 広, 森嶋康之, Ruben Mercado, 加藤 基恵. 南米チリよりDNA 鑑別依頼のあった裂頭条虫について. *Clin. Parasitol.* 20, 27-29, 2009.
- 10) 姜 朱美, 住田菜穂子, 福田 均, 杉山 広, 山崎 浩. 皮膚二核顎口虫症. *皮膚科診療*. 31, 977-980, 2009.
- 11) 児玉紀子, 山本佳史, 本津茂人, 吉川雅則, 木村弘, 西尾福真理子, 王子幸輝, 石坂 重明, 吉川正英, 赤尾信明, 山崎 浩. 所在の変わる皮膚および関節の疼痛を訴えた 肺トキソカラ症の1例. *Clin. Parasitol.* 20, 49-51, 2009.
- 12) 小出照子, 山崎 浩, 渡辺伸元, 木許 泉, 河邊太加志. 日本海裂頭条虫症の兄妹例. *日小児誌*. 114, 1065-1068, 2010.
- 13) 山本徳栄, 近 真理奈, 斎藤利和, 前野直弘, 小山雅也, 砂押克彦, 山口正則, 森嶋康之, 川中正憲. 埼玉県のイヌおよびネコにおける腸管寄生虫類の保有状況. *感染症誌*. 83, 223-228, 2009.
- 14) 木村政明, 東海林 彰, 立崎 元, 田中成子, 原田邦弘, 新井山潤一郎, 山崎 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 川中正憲. 青森県のと畜場に搬入された豚から検出されたエキノコックス (多包虫) について. *病原微生物検出情報*. 30, 243-244, 2009.
3. 書籍 (英文)
- 1) Chung Chau Hon, Kumiko Nakada-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki and Nancy Guillén (2010) *Dissecting the*

- Actin Cytoskeleton of *Entamoeba histolytica* from a Genomic Perspective. In "Anaerobic Parasitic Protozoa: Genomics and Molecular Biology" Edited by C. Graham Clark, Patricia J. Johnson and Rodney D. Adam. Caister Academic Press, ISBN: 978-1-904455-61-5, March 2010.
- 2) Kumiko Nakada-Tsukui and Tomoyoshi Nozaki (2010) Genomic and post-genomic approaches to understand the pathogenesis of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. In "Genomes of Food- and Water-borne Pathogens" Edited by Pina Fratamico, Sophia Kathariou, and Yanhong Liu. ASM Press, Washington, D.C. In press.
4. 書籍 (和文)
川中正憲, 共著者多数. 「食品安全の事典」. 日本食品衛生学会編集. 朝倉書店. 2009.
- II. 学会発表
1. 国際学会
- 1) Jeelani, G., Husain, A., Sato, D., Suematsu, M., Ali, V., and Nozaki, T. Biochemical and physiological function of a novel reductase from the microaerophilic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Sep 8-11, 2009.
- 2) Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., Mi-ichi, F., Soga, T., Suematsu, M., Ali, V., and Nozaki, T. METabolomic and transcriptomic analysis of sulfur-containing amino acid metabolism in enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Sep 8-11, 2009.
- 3) Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., Yamada, Y., and Nozaki, T. Functional analysis of a putative cysteine protease receptor from *Entamoeba histolytica*. The XXth Molecular Parasitology Meeting. Woods Hole, Sep 13-17, 2009.
- 4) Nozaki, T. Rab small GTPases and phosphatidylinositides regulate phagocytosis and membrane trafficking of virulence factors: their roles in the pathogenesis of amebiasis. XVIIIth Congress of Parasitology. Aguascalientes, Mexico, Sep 21-26, 2009.
- 5) Nozaki, T. Mitosomes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* contain a sulfate activation pathway. Adaptive and Innate Immune Response to Neglected Tropical Diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. San Diego, Jan 10-11, 2010.
- 6) Kumiko Nakada-Tsukui, Atsushi Furukawa, Yoko Yamada, and Tomoyoshi Nozaki Identification of a YxxL motif-containing transmembrane protein as a putative receptor of the major virulence factor cysteine protease in the enteric protist *Entamoeba histolytica* 49th The Annual Meeting of the American Society for Cell Biology. San Diego, CA, Dec 5-9, 2009.
- 7) Sugiyama H. and Rangsiruji A. How many kinds of *Paragonimus westermani* are there? The 6th seminar on food-and water-borne parasitic zoonoses. Bangkok, Dec 2-4, 2009.
- 8) Singh S.T., Devi Kh.R. and Sugiyama H. Paragonimiasis haemoptysis in children on the Indian Subcontinent. The 6th seminar on food-and water-borne parasitic zoonoses. Bangkok, Dec 2-4, 2009.
- 9) Singh S.T., Sugiyama H., Rangsiruji A., Devi Kh.R. and Singh L.D. Experimental infection of laboratory animals with *Paragonimus heterotremus* metacercariae occurring in Manipur, India. Joint International Tropical Medicine Meeting Bangkok, Dec 2-4, 2009.
- 10) Ohmae, H., Sugiyama, M., Ebihara, M., Chigusa, Y., Kirinoki, M., Blas, B.L., Ducussin, B., Sinuon, M., Sochet, D. Impact of Climate Changes on Parasitic Diseases. The 1st East Asian International Symposium on Climate Change and Health. Tsukuba, Jun 22-23, 2009.
- 11) Asahi, H., Izumiyama, S., Kwansa-Bentum, B., Tolba M.E. Identification of components of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* that interact with growth-promoting lipids. American Society of Tropical Medicine and Hygiene, the 58th Annual Meeting. Washington, USA, Nov18-22, 2009.
- 12) Kwansa-Bentum, B., Kitamura, K., William, K.A., Kumagai, T., Izumiyama, S., Asahi, H., Wilson, M.D., Ohta, N., Tolba M.E. Comparative study of *Plasmodium falciparum* growth in serum-free media and expression levels of PfCRT gene after exposure to drug. American Society of Tropical Medicine and Hygiene, the 58th Annual Meeting. Washington, USA, Nov 18-22, 2009.
- 13) Ohmae, H. Limitation of clinical diagnosis and evaluation of rapid diagnostic tests to detect vivax malaria in the field. The 2nd international conference on vivax malaria in Asia and Pacific area. Shanghai, China, Jan 29-30, 2010.
- 14) Ohmae, H., Ishikawa, H., Fueda, T., Ono, M., Tnag, L., Gu, Z. Basic analysis to estimate relationship between climate change and emerging of vivax malaria. The 2nd international conference on vivax malaria in Asia and Pacific area. Shanghai, China, Jan 29-30, 2010.
- 15) Sawabe, K., Tsuda, Y., Ohmae, H. Current distribution and molecular identification of anopheline mosquitoes in Japan. The 2nd international conference on vivax malaria in Asia and Pacific area. Shanghai, China, Jan 29-30, 2010.
- 16) Tahara, M., Andrabi, S.B., Kinoshita, T., and Nagamune, K. GPI-deficient mammalian mutant cell is hyper-sensitive to the *Toxoplasma gondii* infection. 10th International Congress on Toxoplasmosis. Karkrade, the Netherlands, Jun 19-23, 2009.
- 17) Tahara, M., Andrabi, S.B., Kinoshita, T., and Nagamune, K. The effect of GPI-deficient mutation of the host cell to the *Toxoplasma gondii* infection. The 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Hyogo, Japan, Sep 8-11, 2009
2. 国内学会
- 1) 永宗喜三郎. *Toxoplasma gondii* as a plant: plant hormone and calcium signaling, 帯広畜産大学第9回 AGHセミナーコンソーシアム (JICAセミナー), 帯広, 2009年6月11日

- 2) 永宗喜三郎. The effect of GPI-deficient mutation to the *Toxoplasma gondii* infection, 筑波大学「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ」若手フェスティバル, 下田, 2009年7月2-3日
- 3) 永宗喜三郎. トキソプラズマ原虫の産生する低分子量生理活性物質とカルシウムシグナリング, 第56回トキシシンポジウム, 岐阜, 2009年8月26-28日
- 4) 平川泰久, 永宗喜三郎, 石田健一郎. 二次共生色素体へのタンパク質輸送機構, 第82回日本生化学会, 神戸, 2009年10月21-24日.
- 5) 永宗喜三郎. トキソプラズマの植物様ホルモンと宿主特異性, 第32回日本分子生物学会, 横浜, 2009年12月9-12日
- 6) 野崎智義. 赤痢アメーバ症新規創薬, 第147回日本獣医学会学術集会, 宇都宮, 2009年4月2-4日
- 7) 野崎智義. 寄生虫と感染症, 知の市場 早稲田大学, 東京, 2009年6月30日
- 8) 古川敦, 津久井久美子, 野崎智義. 赤痢アメーバシステインプロテアーゼ結合タンパク質の機能解析, 第17回分子寄生虫ワークショップ, 草津, 2009年8月6-9日
- 9) 津久井久美子, 野崎智義. イノシトールリン脂質シグナルを介した赤痢アメーバ食餌制御機構, 第8回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 大阪, 2009年10月9-10日
- 10) 見市文香, 野崎智義. ミトコンドリア関連オルガネラの新規機能ー赤痢アメーバ原虫"sulfosome"に存在する硫酸活性化経路ー, 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月21-24日
- 11) 岡田麻美, 見市文香, Nirianne Marie Q. Palacpac, 野崎智義, 狩野繁之, 三田村俊秀. 赤血球期熱帯熱マラリア原虫の脂質滴の生合成と輸送, 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月21-24日
- 12) 津久井久美子, Aleyla Escueta, 中野由美子, 野崎智義. 赤痢アメーバ等における小胞輸送の多様性と進化, 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月21-24日
- 13) 唐木剛, 村野祥子, 亀井加恵子, 佐藤暖, 野崎智義, 原田繁春. *Entamoeba histolytica* 由来メチオニンガンマリナーゼ1と2のX線結晶構造解析, 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月21-24日
- 14) 野崎智義. 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける酸化ストレス応答のメタボローム解析, 第4回メタボロームシンポジウム, 横浜, 2009年11月18-19日
- 15) 黒田誠, 野崎智義. 赤痢アメーバの比較ゲノミクス, 寄生虫ゲノム討論会: 次世代シーケンサーによる新規寄生虫ゲノムの解説, 大阪, 2009年12月4日
- 16) 河津信一郎, 野崎智義. 宿主・組織特異性を規定する宿主・寄生体インターフェースの分子基盤, (ワークショップ) 第32回日本分子生物学会年会, 横浜, 2009年12月9-12日
- 17) 野崎智義. 真核生物におけるミトコンドリアの多様性: 腸管寄生原虫赤痢アメーバの新規オルガネラの解析, 第9回日本ミトコンドリア学会年会, 東京, 2009年12月17-19日
- 18) 田原美智留, Andrabi, S. B. A., 木下タロウ, 永宗喜三郎. トキソプラズマ感染に宿主細胞側GPIアンカーが与える影響, 第17回分子寄生虫学ワークショップ, 群馬, 2009年8月6-9日
- 19) 田原美智留, Andrabi, S. B. A., 木下タロウ, 永宗喜三郎. トキソプラズマ感染における宿主細胞側GPIアンカーの影響, 第8回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 大阪, 2009年10月9-10日
- 20) 遠山知子, 永宗喜三郎, 田原美智留, 堀井俊宏, 田邊和祐. 植物生長調節物質の抗マラリア作用, 第8回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 大阪, 2009年10月9-10日
- 21) 泉山信司, 猪又明子, 百田隆祥, 岸田直裕, 秋葉道宏, 八木田健司, 遠藤卓郎. RT-LAMP法によるクリプトスポリジウム検査法の開発, 第69回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 2009年10月3日
- 22) 高岡紀子, 八木田健司, 亀井裕子, 山上 聡, 野崎智義, 松原正男. 当院で得られたアカントアメーバの遺伝学的分類, 第46回日本眼感染症学会, 大阪, 2009年7月10-12日
- 23) 猪又明子, 百田隆祥, 泉山信司, 遠藤卓郎. RT-LAMP法による水試料からのクリプトスポリジウム高感度検出, 日本水処理生物学会第46回大会, 高知, 平成21年11月11-13日
- 24) 百田隆祥, 太田嘉則, 神田秀俊, 猪又明子, 泉山信司, 遠藤卓郎. RT-LAMP法を用いたクリプトスポリジウムの高感度迅速検出, 第44回日本水環境学会年会, 福岡, 2010年3月15-17日
- 25) 岸田直裕, 秋葉道宏, 泉山信司, 宮田 亮, 野田尚宏, 関口勇地, 古田篤史, 常田 聡. 新規遺伝子定量手法ABC-PCR法を用いた水中の病原微生物の定量, 第44回日本水環境学会年会, 福岡, 2010年3月15-17日
- 26) 杉山寛治, 神田 隆, 高橋奈緒美, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎. 循環ろ過式浴槽モデルにおけるクロラミンBの消毒効果, 第36回日本防菌防黴学会年次大会, 大阪, 2009年9月14-15日
- 27) 高橋淳子, 久保田佳子, 畔上二郎, 大島赴夫, 小島幸一, 香川 (田中) 聡子, 神野透人, 泉山信司, 遠藤卓郎. モノクロラミン (塩素代替消毒剤) の皮膚一次刺激性に関する研究, 第36回日本防菌防黴学会年次大会, 大阪, 2009年9月14-15日
- 28) 泉山信司, 猪又明子, 八木田健司, 遠藤卓郎. LAMP法 (Loop-mediated Isothermal Amplification) によるクリプトスポリジウム検出のためのオーシスト精製とDNA抽出, 第60回全国水道研究発表会, さいたま, 2009年5月20-22日
- 29) 泉山信司, 八木田健司, 倉 文明, 遠藤卓郎. モノクロラミンによる *Naegleria* アメーバの消毒, 第9回環境技術学会研究発表大会, 堺, 2009年9月11日
- 30) 高橋淳子, 香川 (田中) 聡子, 久保田佳子, 大島赴夫, 小島幸一, 泉山信司, 遠藤卓郎, 高島浩介, 神野透人. 公衆浴場における消毒副生成物の暴露評価と真菌汚染の実態調査について, 第9回環境技術学会研究発表会, 大阪, 2009年9月11日
- 31) Nakada-Tsukui, K., Picazzari, K., Tsuboi, K., and Nozai, T. Unique role of the autophagic pathway in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 第32回日本分子生物学会年会, 横浜, 2009年12月9-12日
- 32) Kumiko Nakada-Tsukui and Tomoyoshi Nozaki. FYVE domain of EhFP4 does not mediate direct binding to PtdIns-3Ps, but regulates their specificity. 第61回細胞生物学会大会, 名古屋, 2009年6月2-4日
- 33) 梅原梓里, 荒木 潤, 川上 泰, 内田明彦, 杉山 広. アニサキスの分類学的解析: 人への感染源の特定に向けたサバ由来虫体の検索, 第147回日本獣医学会学術集会, 宇都宮, 2009年4月2-4日
- 34) 佐山宏一, 藤原 宏, 長谷川直樹, 石坂彰敏, 仲地 一郎, 金蔵孝介, 山岸由幸, 伊藤 亮, 山崎 浩, 田邊

- 将信. 肺・肝臓に多発嚢胞を認め経皮的嚢胞液ドレナージ治療(PAIR)とアルベンダゾールの長期投与で改善した単包条虫症の1例, 第562回日本内科学会関東地方会, 東京, 2009年5月9日
- 35) 杉山 広. 食習慣を背景に発生する我が国の肺吸虫症, 第20回日本臨床寄生虫学会学術年会, 吹田, 2009年6月20日.
- 36) 寺島 剛, 竹内英二, 西尾久明, 石川将史, 山本徳栄, 荒木 潤, 杉山 広. 肺切除で宮崎肺吸虫の虫嚢内寄生を認めた1例, 第20回日本臨床寄生虫学会, 吹田, 2009年6月20日.
- 37) 山崎 浩, 川中正憲, 荒川京子, 森 有加, 杉山 広, 森嶋康之, Mercado R, 加藤基恵. 南米チリより DNA 鑑別依頼のあった裂頭条虫について, 第20回日本臨床寄生虫学会学術年会, 大阪, 2009年6月20日.
- 38) 杉山 広, 森嶋康之, 川中正憲, 山崎 浩. 食品媒介寄生蠕虫症. アニサキス症・肺吸虫症を例として, 第30回衛生微生物技術協議会総会・研究会, 堺, 2009年7月9-10日.
- 39) 杉山 広, アチャリヤ・ラングシルジ. ウェステルマン肺吸虫の同定論に関連する最近の話題, 第3回蠕虫研究会, 宮崎, 2009年11月13-14日
- 40) 桑原奈々, 杉原徳彦, 宮下 勉, 金谷光恵, 山崎 浩, 朝日博子, 上野正純, 福富裕之, 杉原壽彦. プラジカンテルを用いた駆虫で頭節を回収した得た無鉤条虫の一例, 日本衛生検査所協会学術研究発表会, 東京, 2009年11月26日
- 41) 森嶋康之, 山崎 浩. エキノコックス・関連条虫のゲノムワイド解析の現状, 寄生虫ゲノム討論会, 大阪, 2009年12月4日
- 42) 中野由美子. 原虫における膜輸送の特殊性と多様性: 赤痢アメーバからの情報発信, つくばプロテオミクスフォーラム, つくば, 2009年10月26日
- 43) 北村圭, 熊谷貴, Bethel Bentum K, 三田村俊英, 坪井敬文, 朝日博子, 太田伸生. 熱帯熱マラリア原虫におけるオートファジー関連遺伝子の機能解析, 第20回日本生体防御学会学術総会, 東京, 2009年7月25-26日
- 44) Kwansa-Bentum, B., Asahi, H., Kitamura, K., William, K.A., Kumagai, T., Izumiyama, S., Ohta, N. Comparative study of Plasmodium falciparum growth in three different serum-free media after exposure parasite to chloroquine or artemisinin. 第50回日本熱帯医学会, 沖縄, 2009年10月22-23日
- 45) 大前比呂思, 中澤港, Suraj Eka, 伊藤誠, 長岡史晃, 木村英作, 亀井喜世子, 山内太郎, Bernard Bakote' e. ソロモン諸島におけるマラリア疫学調査への尿診断法の応用, 第50回日本熱帯医学会, 沖縄, 2009年10月22-23日
- 46) 大前比呂思. 寄生虫症の疫学と対策 -マラリアと住血吸虫症対策の現場から-, 第3回現象数理21世紀COEシンポジウム 「感染症 -実像とモデリング 分野の垣根を越えて-」, 東京, 2010年2月17-18日

寄生動物部